

## RIDA® UNITY Norovirus I & II

**REF** UN1415



## 1. Tilsigtet anvendelse

Til *in vitro*-diagnostisk anvendelse. RIDA®UNITY Norovirus I & II test, udført på RIDA®UNITY-platformen, er en multipleks realtids-RT-PCR-test til direkte kvalitativ påvisning af RNA fra norovirus fra genogruppe I (GI) og norovirus fra genogruppe II (GII) i ubehandlede humane afføringsprøver fra personer med tegn og symptomer på akut gastroenteritis.

RIDA®UNITY Norovirus I & II-test er beregnet til at understøtte diagnosticering af infektion med norovirus genogruppe I (GI) og II (GII) hos patienter med symptomer på gastroenteritis i forbindelse med andre kliniske fund og laboratoriefund.

Negative resultater udelukker ikke norovirus-infektion og bør ikke anvendes som eneste grundlag for diagnosticering.

Produktet er beregnet til professionel brug.

## 2. Oversigt og forklaring af testen

Norovirus er en af verdens mest almindelige årsager til ikke-bakteriel gastroenteritis hos mennesker i alle aldersgrupper og resulterer i omkring 70.000 til 200.000 dødsfald hvert år.<sup>(1)</sup> De er ansvarlige for omkring 20 % af alle tilfælde af akut gastroenteritis på verdensplan. Humane norovirus, tidligere kaldet Norwalk-virus, blev først identificeret i 1972 i afføringsprøver indsamlet under et udbrud af gastroenteritis i Norwalk, Ohio, USA, hvilket gør dem til de første virale patogener, der beviseligt forårsager gastroenteritis.<sup>(2)</sup>

Norovirus tilhører familien *Caliciviridae* og er små, ikke-indkapslede vira med enkeltstrenget RNA (ssRNA). Baseret på de genetiske sekvenser af viral RNA-afhængig RNA-polymerase og capsidproteinet er norovirus opdelt i 10 genogrupper (GI til GX) med aktuelt mere end 49 forskellige genotyper (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI og 1 genotype hver for GVII, GVIII, GIX [tidligere GII.15] og GX) og en række forskellige stammer. Genogrupperne GI, GII, og undertiden GIV er de vigtigste med hensyn til human patogenicitet.<sup>(1)</sup> I USA er over 99 % af alle udbrud af norovirus forårsaget af GI- og GII-virus.<sup>(3)</sup> Gastroenteritis på grund af norovirus er ofte forårsaget af tilstedeværelsen af virioner i afføring og opkast, mens det tager kun 10 smitsomme partikler til at forårsage sygdom. Den høje miljøstabilitet og den lave infektionsdosis gør norovirus meget overførbart.<sup>(4)</sup> Typiske symptomer på norovirus infektioner er diarré, opkastning, og kvalme.<sup>(3)</sup>

### 3. Testprincip

RIDA<sup>®</sup>UNITY Norovirus I & II-testen er en multipleks realtids-RT-PCR-test til direkte kvalitativ påvisning og differentiering af norovirusgenogruppe I RNA og norovirusgenogruppe (GII) og GIV RNA i humane afføringsprøver. Behandlingen er fuldt automatiseret med RIDA<sup>®</sup>UNITY-systemet. Først ekstraheres nukleinsyrerne ved hjælp af RIDA<sup>®</sup> UNITY Universal Extraction Kit og Internal Control Kit.

Måsekvensen detekteres i et et-trins realtids RT-PCR-format, dvs. at omvendt transkription (RT) og efterfølgende PCR udføres i ét reaktionshætteglas. I processen transskriberes det isolerede RNA til cDNA ved hjælp af revers transkriptase.

Genfragmenterne der er specifikke for norovirus GI og GI/GIV, amplificeres derefter ved anvendelse af PCR i realtid.

De amplificerede måsekvenser (ORF1/ORF2-forbindelsesregion) detekteres ved anvendelse af hydrolyseproberne, der er knyttet til en quencher i den ene ende og til et fluorescerende referentfarvestof (fluorofor) i den anden ende. Proberne hybridiseres til amplikonen i nærværelse af en måsekvens. Under forlængelsen adskiller TaqPolymerase referencen fra slukningsmidlet. Referenten udsender et fluorescerende signal, der detekteres af den optiske enhed på et realtids-PCR-instrument. Det fluorescerende signal stiger med mængden af dannede amplikoner. RIDA<sup>®</sup>UNITY Internal Control Kit skal anvendes samtidigt for at kunne kontrollere prøveklargøring og/eller potentiel PCR-hæmning.

### 4. Medfølgende reagenser

Sættet indeholder reagenser til 96 bestemmelser.

**Tabel. 1:** Medfølgende reagenser

REF	Reagens	Mængde		Lågfarve
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	gul, klar til brug
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	rød, klar til brug
UNZ1415PC	Positive Control	1 ×	200 µL	blå, klar til brug
UNZ1415NC	Negative Control	1 ×	450 µL	hvid, klar til brug

\*Ved gentagen brug og i mindre serier kan antallet af reaktioner være reduceret.

## 5. Opbevaringsanvisninger

- Følg retningslinjerne for håndtering i tabel 2, og gem sættet direkte efter brug i henhold til vejledningen.
- Alle reagenser skal opbevares ved -16 °C til -28 °C et mørkt sted og kan, hvis de ikke er åbnet, anvendes indtil udløbsdatoen på etiketten. Kvalitetsgarantien er ikke længere gyldig efter udløbsdatoen.
- Alle reagenser skal optøs omhyggeligt inden brug (f.eks. i et køleskab ved 2-8 °C).
- Gentagen frysning og optøning op til 8 gange påvirker ikke testegenskaberne.

**Tabel. 2:** Opbevaringsforhold og oplysninger

	Opbevaringstemperatur	Maksimal opbevaringstid
uåbnet	-16 til -28 °C	Kan bruges indtil den påtrykte udløbsdato
åbnet	-16 til -28 °C	8 nedfrysnings-/optøningscykluser

## 6. Nødvendige materialer, som ikke følger med

Multipleks realtids RT-PCR ved hjælp af RIDA®UNITY Norovirus I & II er udelukkende beregnet til brug med RIDA®UNITY-systemet. Følgende produkter er absolut nødvendige for korrekt brug:

### 6.1 Reagenser

Følgende reagenser er nødvendige til udførelse af RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen:

Reagenser	Bestillingsnummer
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

### 6.2 Laboratorieudstyr

Følgende udstyr er nødvendigt for at udføre RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen:

udstyr
RIDA®UNITY-system; varenummer: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY-forbrugsvarer (spidser, plader, reaktionsglas, film). Se brugsanvisningen til RIDA® UNITY-systemet for oplysninger om bestilling af forbrugsvarer.
Vortexer
Bordcentrifuge
Pudderfri engangshandsker

Eksterne cyclere (mulig systemforbedring)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

RIDA®UNITY Norovirus I & II-kittet kan bruges sammen med andre kompatible cyclere. Alternative realtids PCR-instrumenter skal verificeres/valideres af brugeren. Kontakt R-Biopharm AG på [pcr@r-biopharm.de](mailto:pcr@r-biopharm.de) for at kontrollere kompatibiliteten.

## 7. Advarsler og forsigtighedsregler for brugerne

Til *in vitro*-diagnostisk anvendelse.

Denne test må kun udføres af uddannet laboratoriepersonale. Retningslinjerne for arbejde på medicinske laboratorier skal overholdes.

Brugsanvisningen skal altid følges nøje ved udførelse af denne test.

Brug ikke munden til at pipettere prøver eller reagenser. Undgå kontakt med ødelagt hud og slimhinder.

Bær personligt beskyttelsesudstyr (passende handsker, kittel, sikkerhedsbriller) ved håndtering af reagenser og prøver, og vask hænderne efter afsluttet test.

Der må ikke ryges, spises eller drikkes i områder, hvor prøver eller testreagenser behandles.

Undgå at kontaminere prøverne og komponenterne i sættet med mikrober og nukleaser (DNase/RNase).

Kliniske prøver skal betragtes som potentielt smitsomme og skal bortskaffes på passende vis, ligesom alle reagenser og materialer, der kommer i kontakt med potentielt smitsomme prøver.

Komponenterne (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) fra et sæt af en parti må ikke udskiftes eller kombineres med komponenterne fra et andet parti.

Testkittet kan bruges i 8 uger efter første åbning (kittet kan genopfyldes op til 6 gange). Brug ikke testsættet efter udløbsdatoen. Disse specifikationer kontrolleres også af RIDA®UNITY-systemet.

Brugerne er ansvarlige for korrekt bortskaffelse af alle reagenser og materialer efter brug. Overhold de nationale bestemmelser for bortskaffelse.

Yderligere oplysninger om sikkerhedsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS) kan findes under varenummer på <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

For brugere i Den Europæiske Union: Rapportér alle alvorlige bivirkninger i forbindelse med produktet til R-Biopharm AG og de passende nationale myndigheder.

## 8. Indsamling og opbevaring af prøver

Det anbefales at bruge nyt prøvemateriale for at opnå den bedst mulige ydelse af RIDA®UNITY Norovirus I & II-assayet.

Undgå gentagen nedfrysning/optøning af prøven.

Opsaml ikke afføringsprøverne i transportbeholdere, der indeholder transportmedier med konserveringsmidler, dyresera, metalioner, oxidationsmidler eller rengøringsmidler, da sådanne stoffer kan interferere med RIDA®UNITY-testen.

Det anbefales at fremstille afmålte portioner af prøverne for at undgå gentagen optøning og nedfrysning. Frosne prøver skal optøs umiddelbart før ekstraktion for at forhindre nedbrydning af nukleinsyrerne.

Følg instruktionerne for opbevaring af prøver i tabel 3. Til 6.

**Tabel. 3:** Opbevaring af prøver - påvisning af norovirus GI

Naturlige prøver – afføring		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 dage	≤ 9 dage	≤ 6 måneder

I eluat (fra afføring)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 timer	≤ 36 timer	≤ 1 måned

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C/-80 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af afføringsprøver op til 5 gange ikke testegenskaberne.

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af eluat (fra afføring) op til 3 gange ikke testegenskaberne.

**Tabel. 4:** Opbevaring af prøver - påvisning af norovirus GI og GII

Naturlige prøver – afføring		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 dage	≤ 9 dage	≤ 6 måneder

I eluat (fra afføring)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 timer	≤ 36 timer	≤ 1 måned

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C/-80 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af afføringsprøver op til 5 gange ikke testegenskaberne.

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af eluat (fra afføring) op til 3 gange ikke testegenskaberne.

## 8.1 DNA-forberedelse fra afføringsprøver

For at isolere DNA fra afføringsprøver skal du bruge RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Følg de direkte procedurer i brugsanvisningen til Rida® UNITY Universal Extraction Kit (Afsnit: Nukleinsyre-forberedelse fra afføringsprøver).

## 9. Testprocedure

Ved start af brugen anbringes både prøverne og reagenserne fra RIDA®UNITY Norovirus I & II på RIDA®UNITY-systemet.

På forhånd blandes reaktionsblandingen [Reaction Mix], [Negative Control] og [Positive Control] ved hjælp af en vortexer. Enzyme Mix må ikke vortexes. Derefter centrifugeres alle komponenter kortvarigt.

PCR-rørene til de prøver, der skal undersøges, anbringes på forhånd i den integrerede PCR-cycler.

Der findes bærere til korrekt indlæsning af systemet med reagenser og forbrugsmaterialer. Følg instruktionerne i RIDA®UNITY-systemet for indlæsningsprocessen. Overhold de relevante afsnit i manualen til RIDA®UNITY-systemet (Afsnit: Udførelse af kørsel).

RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen må kun anvendes i kombination med RIDA®UNITY Internal Control Kit. Dette giver mulighed for tidlig registrering af potentiel PCR-hæmning, verificering af reagensintegritet og bekræftelse af vellykket nukleinsyreekstraktion. Proceduren er beskrevet i brugsanvisningen til Rida®UNITY Internal Control Kit (Afsnit: Testprocedure)

Automatiseret behandling er beskrevet i manualen til RIDA®UNITY-system (Afsnit: Udførelse af kørsel).



## 9.1 Enhedsindstillinger

### 9.1.1 Universal realtids-PCR-profil

For at harmonisere RIDA®UNITY-assays, blev RIDA®UNITY Norovirus I & II-assayet verificeret i den universelle profil. Dette gør det muligt at kombinere DNA- og RNA-analyser. Generelt kommer omvendt transskription derfor først i den universelle profil.

**Tabel. 7:** Universal realtids PCR-profil til RIDA®UNITY

<u>Omvendt transskription</u>	10 min, 58 °C
Oprindelig denaturering	1 min, 95 °C
Cyklusser	45 cyklusser
<u>PCR</u> Denaturering	10 sek., 95 °C
Adoucering/forlængelse	15 sek., 60 °C
Temperaturovergangshastighed/rampehastighed	maksimum

**Bemærk: Adoucering og forlængelse foregår i samme trin.**

**Tabel. 8:** Universal realtids PCR-profil til CFX96™ Dx

<u>Omvendt transskription</u>	10 min, 58 °C
Oprindelig denaturering	1 min, 95 °C
Cyklusser	45 cyklusser
<u>PCR</u> Denaturering	15 sek., 95 °C
Adoucering/forlængelse	30 sek., 60 °C
Temperaturovergangshastighed/rampehastighed	maksimum

**Bemærk: Adoucering og forlængelse foregår i samme trin.**

## 9.2 Detektionskanalindstilling

**Tabel. 9:** Valg af egnede detektionskanaler

<b>Realtids-PCR-instrument:</b>	<b>Detektion</b>	<b>Detektionskanal</b>	<b>Bemærk</b>
<b>R-Biopharm RIDA®UNITY</b>	Norovirus GII	FAM	SEEK kanal GGII
	Intern kontrol	HEX	SEEK kanal ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK kanal GGI
<b>Bio-Rad CFX96™ Dx</b>	Norovirus GII	FAM	SEEK kanal GGII
	Intern kontrol	VIC	SEEK kanal ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK kanal GGI

## 10. Kvalitetskontrol – angivelse af ustabilitet eller udløb af reagenser

Prøverne evalueres ved hjælp af RIDA®SEEK analytisk software til RIDA®UNITY-systemet. Den **Negative Control** og den **Positive Control** skal vise de korrekte resultater (se faneblad 9).

Den **Positive Control** findes i en koncentration på  $10^3$  kopier/ $\mu\text{L}$ . Den bruges i en samlet mængde på  $5 \times 10^3$  kopier til hver PCR-kørsel.

Den **Negative Control** indeholder allerede RIDA®UNITY Internal Control. Da kontrollerne ikke indeholder en skabelon, må der ikke forventes signaler i målkanalerne. Positive signaler i den IC-kanal, hvormed den interne kontrol detekteres, er afgørende (se faneblad 10).

**Tabel.10:** En gyldig PCR-kørsel skal opfylde følgende betingelser:

Prøve	Resultat	IC Ct	Målgen Ct
Positiv kontrol	+	Ikke relevant*	Se analysecertifikat (Certificate of Analysis, CoA)
Negativ kontrol	-	Ct > 20	0

\*Under visse omstændigheder kan IC-kanalen have et positivt signal i den positive kontrol og bør derfor ikke evalueres.

Hvis den positive kontrol ikke er i det specificerede Ct-område, men den negative kontrol er gyldig, skal alle reaktionerne samt kontrollerne i PCR'en genanalyseres.

Hvis den negative kontrol ikke er negativ, men den positive kontrol er gyldig, skal alle reaktionerne i PCR genanalyseres.

Hvis de angivne værdier ikke opnås, kontrolleres følgende punkter, før testen gentages:

- De anvendte reagensers udløbsdato
- Funktionaliteten af det anvendte udstyr
- Korrekt testprocedure

Hvis betingelserne stadig ikke er opfyldt efter gentagelse af testen, skal du kontakte producenten eller din lokale R-Biopharm-distributør.

## 11. Evaluering og fortolkning

Prøveevaluering og -tolkning foretages ved hjælp af RIDA® UNITY-systemets analytiske software RIDA®SEEK.

Der findes aktuelt ingen internationalt anerkendt referencemetode eller referencemateriale til standardisering. Kontrolmaterialerne er metrologisk sporbare fra interne R-Biopharm AG-standarder baseret på specifikke, syntetiske DNA-amplifikoner.

Yderligere oplysninger om metrologisk sporbarhed kan fås ved at kontakte R-Biopharm AG.

De specificerede værdier, variationer og yderligere oplysninger kan findes i Certificate of Analysis (CoA).

**Tabel.11:** Resultatfortolkning\*

Detektion af			
Norovirus GII	Norovirus GI	IC	Resultat
+	-	+/-	Norovirus GII <sup>1</sup> påviselig
-	+	+/-	Norovirus GI påviselig
+	+	+/-	Norovirus GII <sup>1</sup> og norovirus GI påviselig
-	-	+	Målgene ikke påvist
-	-	-	Ugyldig

\* += positiv

- = negativ

<sup>1</sup> Se metodens begrænsninger (afsnit 10)

En prøve er positiv, hvis prøve-DNA og **Internal Control** viser et opformeret signal i detektionssystemet.

En prøve er også positiv, hvis prøve-DNA viser et opformeret signal, mens der ikke ses et opformeret signal for **Internal Control** i detektionssystemet. Detektion af **Internal Control** er ikke nødvendig i dette tilfælde, fordi høje amplikonkoncentrationer kan forårsage et svagt eller fraværende signal for **Internal Control**.

En prøve betragtes som negativ, hvis prøve-DNA ikke viser et opformeret signal, men et opformeret signal for **Internal Control** kan ses i detektionssystemet. En hæmning af PCR-reaktionen og tidligere ekstraktion kan udelukkes ved påvisning af **Internal Control**.

En prøve er ugyldig, hvis prøve-DNA og Internal Control ikke viser et opformeret signal i detektionssystemet. Der er hæmmere til stede i prøven, eller der opstod en fejl under ekstraktionsprocessen.

## 12. Metodens begrænsninger

1. RIDA<sup>®</sup>GENE Norovirus I & II-test påviser norovirus GI og norovirus GII RNA i ubehandlede humane afføringsprøver. Ud fra dette er det ikke muligt at udlede en forbindelse mellem niveauet af en målt Ct-værdi og forekomsten af svære kliniske symptomer. De resultater, der opnås, skal altid fortolkes sammen med alle kliniske symptomer.
2. En diagnose bør ikke baseres på resultatet af den molekylærbiologiske analyse alene, men bør altid tage patientens anamnese og symptomer i betragtning.
3. Denne test er kun godkendt til automatisk behandling ved hjælp af RIDA<sup>®</sup>Unity-systemet.
4. Denne test er kun blevet verificeret og valideret for afføringsprøver.
5. Forkert prøveudtagning, transport, opbevaring og håndtering eller en patogenbelastning under testens analytiske følsomhed kan føre til falsk negative resultater.
6. Tilstedeværelsen af PCR-hæmmere kan føre til falsk negative eller ugyldige resultater.
7. Som ved alle PCR-baserede *in vitro*-diagnostiske test kan der påvises ekstremt lave koncentrationer af målsekvenserne, som ligger under detektionsgrænsen (LoD 95 %). De opnåede resultater er ikke altid reproducerbare.
8. Mutationer eller polymorfismer i primer- eller probebindingsstederne kan interferere med påvisningen af nye eller ukendte varianter og kan føre til falsk-negative resultater ved brug af RIDA<sup>®</sup>UNITY Norovirus I & II.
9. Et positivt testresultat er ikke nødvendigvis en påvisning af tilstedeværelsen af levedygtige organismer. Et positivt resultat indikerer, at målgenerne (norovirus GI og GII; ORF1/ORF2 forbindelsesregion) er til stede.
10. Norovirus af gengruppe IV, som i meget sjældne tilfælde også kan inficere mennesker, påvises ligeledes med RIDA<sup>®</sup>UNITY Norovirus I & II.
11. Denne analyse skal udføres i overensstemmelse med reglerne om god laboratoriepraksis (GLP). Brugere skal følge fabrikantens anvisninger nøjagtigt, når de udfører testen.

## 13. Ydelseskarakteristika

### 13.1 Kliniske ydelseskarakteristika

RIDA<sup>®</sup>UNITY Norovirus I & II multipleks reeltids-PCR blev i et eksternt laboratorium sammenlignet med en CE-mærket referencetest baseret på 237 afføringsprøver fra patienter med symptomer på gastrointestinal infektion.

Resultaterne viser høj sensitivitet og specificitet til påvisning af norovirus GI eller GII i humane afføringsprøver.

**Tabel. 12:** Påvisning af norovirus GI

		Reference-PCR		I alt
		Positiv	Negativ	
RIDA <sup>®</sup> UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Positiv	33	0	33
	Negativ	3	201	204
	I alt	36	201	237

Relativ følsomhed (95 % CI)	91,7 % (77,5 % - 98,2 %)
Relativ specificitet (95 % CI)	100 % (98,2 % - 100 %)

**Tabel. 13:** Påvisning af norovirus GII

		Reference-PCR		I alt
		Positiv	Negativ	
RIDA <sup>®</sup> UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Positiv	126	0	126
	Negativ	4	107	111
	I alt	130	107	237

Relativ følsomhed (95 % CI)	96,9 % (92,3 % - 99,2 %)
Relativ specificitet (95 % CI)	100 % (96,6 % - 100 %)

## 13.2 Analytiske ydelseskaraktistika

### 13.2.1 Detektionsgrænse (LoD 95%)

Der blev målt en positiv prøve (negative afføringsprøver, tilsat eller ved brug af afføringsprøve) i fem fortyndingstrin (i 0,25-logtrin) for hvert mål med 20 gentagelser pr. trin i ét lot til bestemmelse af LoD. Dette blev efterfulgt af en probitanalyse. Derefter blev den beregnede LoD bekræftet med 20 gentagelser pr. mål for det beregnede fortyndingstrin/den beregnede koncentration.

Til påvisning af norovirus GI og norovirus GII RNA ved hjælp af RIDA®UNITY Norovirus I & II-analyser på UNITY-systemet kunne følgende detektionsgrænser (LoDs) identificeres.

Resultaterne af disse målinger er vist i tabel 15.

**Tabel. 15:** Resultater af detektionsgrænsen for RIDA®UNITY Norovirus I & II-testene for parametrene norovirus GI og norovirus GII. i afføringsprøver

	Norovirus GI	Norovirus GII
LoD	4.85E-04 [fortyndingsfaktor]**	5.98E-05 [fortyndingsfaktor]*

\* Relativ fortynding af stamopløsningen. Positiv klinisk prøve med Ct-område på 26 - 27

\* Relativ fortynding af stammeopløsningen. Positiv klinisk prøve med Ct-område på 30 - 31

LoD for parameteren norovirus GI i afføringsprøver blev bestemt til at være 4.85E-04 [fortyndingsfaktor].

LoD for parameteren norovirus GII i afføringsprøver blev bestemt til at være 5.98E-05 [fortyndingsfaktor].

For en forbedret arbejdsgang ved brug af CFX96™ Dx blev disse LoD-værdier bekræftet under forudsætning af, at vi forbliver i et LoD-interval på 2-3 gange.

### 13.2.2 Analytisk specificitet

#### Interfererende stoffer

Tilstedeværelsen af PCR-hæmmere og interfererende stoffer kan føre til falsk negative eller ugyldige resultater. Derfor blev virkningerne af forskellige stoffer, som kan forekomme på grund af deres udbredte anvendelse ved gastrointestinale infektioner eller udbredte forekomst i tilsvarende prøver, undersøgt.

Stoffer, der potentielt kan have væsentlig indflydelse på testresultaterne, blev i første omgang undersøgt ved høje koncentrationer (tredobling af den daglige dosis eller simulering af det værst tænkelige tilfælde) i en interferensscreening.

Der blev ikke fundet interferens for de stoffer, der er opført i tabel 16.

**Tabel. 16:** Potentielt interfererende stoffer

Potentielt interfererende stof	Koncentration
Ciprofloxacin-ratiopharm® 500 mg filmovertrukne tabletter (ciprofloxacin)	0,375 % [w/v]
Ætanol	5 % baseret på eluatet
Guanidiniumhydrochlorid	5 % baseret på eluatet
Menneskeblod	5 % [v/v]
Mucins	5 % [w/v]
Stearin-/palmitinsyre	40 % [w/v]



## Krydsreaktioner

Forskellige organismer (bakterier, parasitter og virus), der er almindeligt forekommende i afføringensmatrixen blev undersøgt. De mikroorganismer, der skal undersøges for denne assay, er udvalgt, fordi de enten forekommer naturligt i afføringsprøver, eller de forårsager tilsvarende symptomer som gastrointestinale patogener. Til analyserne blev der anvendt bakteriekulturer (mellem  $10^7$  og  $10^9$  CFU/mL) og svampekulturer eller virale isolater (fra positive afføringsprøver) for de respektive organismer.

RIDA<sup>®</sup>UNITY Norovirus I & II multipleks realtids-RT-PCR er specifik for norovirus GI og norovirus GII. Der blev ikke påvist krydsreaktivitet med følgende arter (tabel 17):

**Tabel. 17:** Potentielt krydsreaktive organismer.

Organisme	Testresultat*	
	Norovirus GI	Norovirus GII
Adenovirus	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-
Astrovirus	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-
<i>Campylobacter fetus</i>	-	-
<i>Campylobacter lari</i>	-	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-
<i>Clostridium difficile</i>	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-
<i>Clostridium sordellii</i>	-	-
<i>E. coli</i> (O157 : H7)	-	-
<i>E. coli</i> (O26 : H-)	-	-
<i>E. coli</i> (O6)	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-

Rotavirus	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (Serovar Enteritidis)	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (Serovar Typhimurium)	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-

### 13.2.3 Præcision

Præcisionen af RIDA®UNITY Norovirus I & II realtids-RT-PCR-testen blev bestemt for følgende niveauer af overvejelse.

*Intra-assay-nøjagtighed:* Bestemmelse af 5 kontrolprøver ved hjælp af hver 20 gentagelser på RIDA®UNITY under identiske forhold.

*Inter-assay-nøjagtighed:* Bestemmelse af 5 kontrolprøver i 20 gentagelseskørsler over 10 arbejdsdage (2 kørsler pr. dag) udført af forskellige teknikere under reproducerbare forhold.

Test for *intra-* og *inter-assay* præcision blev udført ved hjælp af tre forskellige partier.

De opnåede variationskoefficienter for de respektive målinger taget ved brug af RIDA®UNITY Norovirus I & II realtids-PCR-testen var ikke mere end 4,82 % på RIDA®UNITY og ikke mere end 3,25 % på CFX96™ Dx.

**Tabel. 18:** Resultater af præcisionen af RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen for norovirus (RIDA®UNITY-system)

Ct gennemsnitsværdi/ CV	<i>Intra-assay</i>			<i>Inter-assay</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Sætlot 1	Sætlot 2	Sætlot 3	Sætlot 1	Sætlot 2	Sætlot 3	Sætlot 1-3	
1	Ct	25,6	24,1	24,3	30,5	29,6	29,4	29,8
	CV (%)	1,27	0,58	0,97	2,97	1,51	2,16	3,04
2	Ct	29,5	29,2	29,3	29,1	28,4	28,3	28,6
	CV (%)	0,42	1,06	0,99	3,11	2,40	2,69	3,10
3	Ct	34,8	33,3	34,1	26,4	25,5	25,4	25,8
	CV (%)	1,11	1,00	1,44	3,01	1,77	2,40	3,14
4	Ct	33,0	33,5	31,9	29,7	28,8	28,7	29,1
	CV (%)	1,50	1,30	0,93	3,17	2,34	2,75	3,35
5	Ct	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

**Tabel 19:** Resultater af præcisionen af RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen for norovirus GI (CFX96™ Dx)

Ct gennemsnitsværdi/ CV	<i>Intra-assay</i>			<i>Inter-assay</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Sætlot 1	Sætlot 2	Sætlot 3	Sætlot 1	Sætlot 2	Sætlot 3	Sætlot 1-3	
1	Ct	26,7	26,1	25,4	29,6	29,0	28,7	29,1
	CV (%)	0,97	0,94	0,93	2,49	1,62	1,50	2,44
2	Ct	30,3	30,0	29,6	28,2	27,4	27,2	27,6
	CV (%)	0,72	0,90	0,51	2,20	1,75	1,66	2,66
3	Ct	33,1	32,6	32,5	25,7	25,2	25,0	25,3
	CV (%)	0,81	0,74	0,82	1,91	1,40	1,48	2,13
4	Ct	32,4	31,9	31,7	28,9	28,3	28,0	28,4
	CV (%)	1,16	0,74	0,64	2,83	1,95	1,98	2,72
5	Ct	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

**Tabel 20:** Resultater af præcisionen af RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen for norovirus GII (RIDA®UNITY System)

Ct gennemsnitsværdi/ CV	<i>Intra-assay</i>			<i>Inter-assay</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Sætlot 1	Sætlot 2	Sætlot 3	Sætlot 1	Sætlot 2	Sætlot 3	Sætlot 1-3	
1	Ct	23,4	21,7	21,7	28,4	26,9	26,8	27,4
	CV (%)	1,12	0,39	1,00	4,02	1,98	2,64	4,46
2	Ct	27,9	26,8	26,8	30,6	29,4	29,2	29,7
	CV (%)	0,76	0,77	0,75	3,42	2,33	2,64	3,69
3	Ct	33,6	31,6	32,3	23,7	22,6	22,4	22,9
	CV (%)	1,43	0,85	1,43	3,93	2,16	2,63	4,31
4	Ct	31,7	31,4	30,1	27,3	25,8	25,7	26,3
	CV (%)	1,45	1,31	0,96	4,30	2,86	3,34	4,82
5	Ct	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

**Tabel 21:** Resultater af præcisionen af RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen for norovirus GII (CFX96™ Dx)

Ct gennemsnitsværdi/ CV	<i>Intra-assay</i>			<i>Inter-assay</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Sætlot 1	Sætlot 2	Sætlot 3	Sætlot 1	Sætlot 2	Sætlot 3	Sætlot 1-3	
1	Ct	24,2	23,4	22,7	27,7	27,2	26,8	27,2
	CV (%)	1,07	1,02	1,23	3,19	2,06	1,91	2,94
2	Ct	28,6	28,3	27,8	29,1	28,3	28,1	28,5
	CV (%)	0,93	0,65	0,83	2,23	1,65	1,93	2,70
3	Ct	32,0	31,4	31,2	22,9	22,4	22,2	22,5
	CV (%)	0,85	0,90	0,61	2,28	1,42	1,57	2,45
4	Ct	30,8	30,2	30,0	26,6	26,1	25,8	26,2
	CV (%)	1,11	0,69	0,85	3,25	2,27	2,23	3,03
5	Ct	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

### 13.2.4 Analytisk reaktivitet

Reaktiviteten af RIDA®GENE Norovirus I & II multipleks realtids-RT-PCR-testen blev undersøgt på et defineret panel af forskellige norovirusgenotyper af genogruppe I og II (se tabel 22).

**Tabel 22:** Analytisk reaktivitetstestning

Stamme	Resultat*	
	Norovirus GII	Norovirus GI
Norovirus P31-GII4 Sydney	+	-
Norovirus GII.P4 New Orleans/GII.4 Sydney	+	-
Norovirus GII.P16-GII.4 Sydney	+	-
Norovirus GII.P16-GII.2	+	-
Norovirus GII.P31-GII.4 Sydney	+	-
Norovirus GII.7	+	-
Norovirus GI.3	-	+

\*+ = positiv (mindst 2 ud af 3 er gentagne gange positive)










- = negativ

## 14. Versionshistorik





Versionsnummer	Afsnit og betegnelse
2022-08-09	Udgivelsesversion

## 15. Symbolforklaringer

### Generelle symboler

	Til <i>in vitro</i> -diagnostisk anvendelse
	Brugsanvisningen skal overholdes
	Partinummer
	Udløbsdato
	Opbevaringstemperatur
	Bestillingsnummer
	Antal tests
	Produktionsdato
	Producent

### Testspecifikke symboler

	Reaktionsblanding
	Enzymblanding
	Negativ kontrol
	Positiv kontrol



## 16. Referencer

1. Chhabra P, de Graaf M, Parra GI, Chan MC, Green K, Martella V, et al. Updated classification of norovirus genogroups and genotypes. *J Gen Virol.* 2019;100(10):1393-406.
2. Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. Norovirus. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(1):134-64.
3. Barclay L, Davis T, Vinjé J. Rare Norovirus GIV Foodborne Outbreak, Wisconsin, USA. *Emerg Infect Dis.* 2021;27(4):1151-4.
4. Nordgren J, Svensson L. Genetic Susceptibility to Human Norovirus Infection: An Update. *Viruses.* 2019;11(3).